UNIVERSITE PARIS VI

FACULTE de MEDECINE
Broussais - Hôtel - Dieu

196

1975 **N°....**

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE
DIPLOME d'ETAT

Par

ZEITOUN Claude

Né le 17 Juin 1950 à Tunis

PREMIERE APPLICATION DE L'ELECTROIMMUNODIFUSION SUR CELLOGEL AU TITRAGE DES IMMUNOGLOBULINES A ET DE LA TRANSFERRINE PLASMATIQUES.

VALEUR TECHNIQUE ET PRATIQUE DANS LE DEPISTAGE DE LA CIRRHOSE ALCOOLIQUE DU FOIE

Président de Thèse : Monsieur le Professeur BESANCON

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548124_0024

UNIVERSITE PARIS VI

FACULTE de MEDECINE
Broussais - Hôtel - Dieu

1975 **N°....**

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLOME d'ETAT

Par

ZEITOUN Claude

Né le 17 Juin 1950 à Tunis

PREMIERE APPLICATION DE L'ELECTROIMMUNODIFUSION SUR CELLOGEL AU TITRAGE DES IMMUNOGLOBULINES A ET DE LA TRANSFERRINE PLASMATIQUES.

VALEUR TECHNIQUE ET PRATIQUE DANS LE DEPISTAGE DE LA CIRRHOSE ALCOOLIQUE DU FOIE

Président de Thèse : Monsieur le Professeur BESANCON

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PREMIERE APPLICATION DE L'ELECTROIMMUNODIFUSION SUR CELLOGEL AU TITRAGE DES IMMUNOGLOBULINES A ET DE LA TRANSFERRINE PLASMATIQUES.

VALEUR TECHNIQUE ET PRATIQUE DANS LE DEPISTAGE DE LA CIRRHOSE ALCOOLIQUE DU FOIE

A Monsieur le Professeur BESANCON

qui a bien voulu me confier ce sujet de thèse, et qui m'a guidé tout au long de son élaboration.

A feu le Professeur COURY

à Monsieur le Professeur BOUR
à Monsieur le Professeur LAMOTTE
à Monsieur le Professeur HOUSSET
à Monsieur le Professeur HALPERN
à Monsieur le Professeur Agrégé VELTI
à Monsieur le Professeur Agrégé GUY GRAND

à Messieurs les Docteurs : GODEFROY
LE TOUZE
DUCHIER
DIAMANT BERGER

qui ont si grandement contribué à m'enseigner la Médecine au cours de mes stages dans les Hopitaux.

A Messieurs les Docteurs : HAUTE COUVERTURE
SAIT
SLAMA,

à Messieurs les Docteurs : DELOCHE et CARTIER

qui m'on tant appris au cours de leurs conférences d'Internat.

A MES PARENTS QUI M'ONT TOUJOURS

TEMOIGNE TOUTE LEUR AFFECTION.

A MA FEMME

A TOUTE MA FAMILLE,

enfin, je dédie ce travail.

PLAN

I - INTRODUCTION - PROBLEMES A RESOUDRE

1°) Du point de vue clinique :

Deux aspects du problème

A) DIAGNOSTIC INDIVIDUEL

B) DEPISTAGE DE MASSE ET INTERET DE CE DEPISTAGE

2°) Du point de vue technique :

A) INTERET DU DOSAGE des IgA et de la transferrine dans le diagnostic et le pronostic des cirrhoses.

B) DIFFERENTES TECHNIQUES (à citer)

II - TECHNIQUES

1°) Technique proposée : électroimmuno-diffusion sur cellogel.

2°) Electrophorèse en gel de Polyacrylamide

3°) Immunodiffusion radiale

III - OBSERVATIONS ET RESULTATS

1°) Recrutement

2°) Critères de définition des classes de malades

3°) Résultats par catégorie - moyennes - écart type

4°) Statistiques

5°) Observations instructives ou discordantes

6°) Exposé des résultats de certains auteurs

IV - DISCUSSION

1°) Valeur technique

A) NOUVEAUTE DE LA METHODE PROPOSEE

B) COMPARAISON AUX AUTRES METHODES (tableau)

C) PERSPECTIVES D'AVENIR TECHNIQUE

2°) Valeur clinique

A) ASPECTS POSITIFS DE LA METHODE : Zone de valeurs prêtant à discussion.

B) PERSPECTIVES D'AVENIR CLINIQUE

a) combinaison avec le dosage de la gamma glutamil transpeptidase

b) que faire en clinique si $1,6 \leq R$

3°) Signification biologique

A) ANAPATHOLOGIE DES CIRRHOSES ALCOOLIQUES

a) macroscopique

b) microscopique

B) PHYSIOPATHOLOGIE DES CIRRHOSES ALCOOLIQUES

C) LESIONS HEPATIQUES DUES A L'ALCOOL

D) TRADUCTION PROTEIQUE DE L'ETAT CIRRHOTIQUE

a) immunoglobulines

b) albumine et globulines non immunitaires.

V - CONCLUSIONS

1°) La technique

2°) Résultats et applications pratiques

A) RESULTATS

B) APPLICATIONS PRATIQUES

3°) Perspectives d'avenir technique et clinique

VI - BIBLIOGRAPHIE

I - INTRODUCTION = PROBLEMES A RESOUDRE

1°) Du point de vue clinique :
trois problèmes se posent :

A) Le diagnostic de la cirrhose alcoolique du foie chez les malades ambulatoires.

En effet, mis à part les cas où le diagnostic est évident (alcoolisme invétéré, gros foie dur, signes d'hypertension portale quels qu'ils soient, ascite), le diagnostic en l'absence de complications est difficile à établir.

On peut parler de présomption devant :

- une augmentation de volume du foie
- des troubles fonctionnels divers
- des altérations biologiques du bilan hépatique
- un alcoolisme chronique.

Seules les investigations suivantes, parfois non exemptes de dangers et toujours couteuses, peuvent affirmer le diagnostic avec certitude :

- scintigraphie hépatique
- électrophorèse des protides
- laparoscopie
- ponction biopsie hépatique.

Pour essayer de gagner en sécurité, en confort, en finesse dans l'établissement du diagnostic, de longues séries de recherches ont étudié les perturbations protéiques au cours des hépatopathies. Dernièrement ARON et Coll. ont contribué à mettre en évidence le syndrome inflammatoire des cirrhoses alcooliques et l'insuffisance hépatocellulaire en montrant lors de celles-ci la hausse considérable du taux d'IgA et la chute du taux de la transferrine.

On détermine aussi le rapport $R = \frac{IgA}{\overline{\overline{Tf}}}$ qui est spécifiquement augmenté au cours des cirrhoses alcooliques du foie.

.../...

(Si l'augmentation de IgA est spécifique de l'alcoolisme, la chute de la transferrine n'est le reflet que de l'insuffisance hépatocellulaire sans préjuger de l'étiologie. On considère néanmoins le rapport des deux pour séparer plus nettement les résultats normaux des pathologiques, éliminer en partie les interférences représentées par les autres étiologies de l'élévation des IgA sur lesquelles nous reviendrons plus loin).

B) Dépistage de masse des cirrhoses alcooliques.
C'est là un problème national.
Nous ne ferons qu'un bref rappel des conséquences pathologiques de l'alcoolisme, en nous attachant plus particulièrement aux paragraphes consacrés aux cirrhoses du foie. (étude tirée des Cahiers Baillère par Monsieur Jean REBOULET).

a) La mortalité par l'alcoolisme

On y retrouve l'alcoolisme sous deux rubriques :

1) la première : l'alcoolisme aigu ou chronique, comprend essentiellement les morts par delirium. Leur nombre a beaucoup diminué avec les progrès de la thérapeutique.

2) la seconde : les cirrhoses du foie.
91 % des cirrhoses en France sont alcooliques.
La statistique publiée par l'I.N.S.E.E. en 1962 souligne l'importance et la croissance de la mortalité par alcoolisme et cirrhose :

- en 1930..... 1,6 % du total des décès
- en 1943..... 1,6 % (mais restrictions du temps de guerre)
- en 1956..... 13 828 décès, soit 5,7 % du total des décès.

Une statistique de l'I.N.S.E.E. de 1968 montre la progression de la mortalité surtout par cirrhose.

- en 1967..... 22 928 décès, soit 47 décès par cirrhose pour 100 000 ha (contre 11,9 en 1947).

.../...

Comme pour la consommation alcoolique, la France vient en tête de la mortalité par alcoolisme.

Cette mortalité alcoolique est particulièrement élevée dans les régions les plus alcoolisées :

. en 1965 : - Bretagne 6,8 % de décès par alcoolisme
- Seine 4,2 % de décès par alcoolisme.

Place de l'alcoolisme et de la cirrhose parmi les autres causes de mortalité.

Nous citerons ici les statistiques établies par P. PERRIN en 1961 :

1961

- mortalité totale.....	496 896
- maladies cardio-vasculaires.....	171 868
- cancers.....	88 318
- alcoolisme - total.....	28 406
- cirrhose.....	11 121
- morts violentes.....	26 774
- tuberculose.....	6 332
- bronchopneumopathies.....	5 552

Nous voyons d'après ces chiffres que l'alcoolisme (et en grande part la cirrhose alcoolique), se classe au troisième rang des causes de mortalité, un peu avant les accidents, bien avant la tuberculose. Mais, il est important de remarquer que l'alcoolisme et la cirrhose sont au premier rang des causes actuellement évitables.

Tous les auteurs reconnaissent la gravité des cirrhoses et un travail de BOQUIEN, PERRIN, GUILLON paru en 1961 montre que sur 426 cas de cirrhose, on compte : - 351 décès (67,1 %)

dont . hémorragie digestive 74
. ictère grave 10
. coma hépatique 160

.../...

- 75 vivants (14,5 %)
  dont 41 malades à la vie précaire.

D'après ce travail, l'espérance de vie chez les cirrhotiques n'est que de 14,5 % au bout de 2 à 5 ans.

b) **Dépenses hospitalières**

Le prix de revient d'un alcoolique hospitalisé est beaucoup plus élevé que celui d'un non-alcoolique. De plus, de toutes les pathologies de l'alcoolisme, la cirrhose est celle qui nécessite l'hospitalisation la plus longue, et dont le prix de revient journalier est le plus fort :

- en 1968 d'après LEREBOULET :
  - sur 60 cirrhoses hospitalisées, la durée moyenne du séjour était de 70,69 jours ; le prix de revient d'une journée par malade 94,14 F. ; le coût du traitement moyen par malade 6 600,00 F. (chiffre à multiplier par trois de nos jours).

En conclusion, nous dirons que la médecine s'engage avec une lenteur coupable dans la voie difficile mais efficiente de la prévention. Ce qui fut si efficace dans la lutte anti-tuberculeuse, ce qui s'avère capital dans le combat contre le cancer, est réalisable contre la cirrhose alcoolique du foie. Ce fléau, troisième cause de mortalité en France, risque d'augmenter ses ravages, du fait de l'alcoolisation de plus en plus importante des Français (cf. LEREBOULET).

Nous proposerons une sorte de dépistage, dans une collectivité fortement alcoolisée, des hépatites cirrhogènes ou des cirrhoses alcooliques à leur début, avant toute manifestation clinique, les expériences ayant montré l'arrêt de l'évolution de ces maladies si l'intoxication cessait à un stade satisfaisant.

.../...

2°) Du point de vue technique :

A) Intérêt du dosage des IgA et de la transferrine dans le diagnostic et le pronostic des cirrhoses alcooliques :

Il n'a été fait appel que très récemment à la détermination du rapport $R = \frac{IgA}{Tf}$ dans l'établissement du diagnostic de cirrhose alcoolique.
Ce fut d'abord l'électrophorèse en gel de polyacrylamide (ARON et Coll.), puis l'immunodiffusion radiale en gelose de Partigen (ARON ; FRUCHART).

Ces travaux ont été d'autant plus interessants que la détermination (par des méthodes peu compliquées) des taux d'IgA et de Tg et du rapport R pouvaient non seulement donner des renseignements orientant le diagnostic, mais aussi pouvaient apporter des arguments en vue de l'établissement du pronostic.

Enfin, il est interessant de constater que pour la première fois, cet examen suggère une certaine réversibilité du processus cirrhotique (ARON et Coll.).

Le pronostic d'une cirrhose alcoolique s'était étroitement lié à la précocité du diagnostic, à l'arrêt de l'intoxication, à une bonne diététique et un bon environnement (PAOLAGGI VM 72).
On est donc en droit d'espérer que le dépistage systématique par détermination du rapport $R = \frac{IgA}{Tf}$, surtout si l'on tombe sur le passage de l'hépatite alcoolique cirrhogène vers la cirrhose alcoolique vraie évoluant pour son propre compte, et s'il est sanctionné de strictes mesures hygiéno-diététiques, puisse permettre, si ce n'est la stabilisation des lésions (hépatite cirrhogène), du moins l'amélioration, voire l'allongement de la durée de survie (cirrhose confirmée).

.../...

B) Différentes techniques de dosage :

Nous les citerons ici, nous les détaillerons dans le paragraphe suivant :

a) technique proposée : électro-immuno-diffusion sur cellogel (électrophorèse en fusées, inspirée de la technique de LAURELL).

b) immuno-diffusion radiale : la plus employée actuellement.

c) électrophorèse en gel de polyacrylamide : aujcurd'hui abandonnée.

d) enfin, à titre expérimental, nous citerons l'immuno-électrophorèse bidimensionnelle.

II - TECHNIQUES DE DOSAGE

1°) La technique proposée :
est originale. Elle est due à Monsieur BARRES, Interne en Pharmacie, chargé de travaux à l'Institut d'Hydrologie.

a) elle présente une double particularité:
- nous employons l'électro-immuno-diffusion en fusées de LAURELL,
- que nous avons adaptée sur cellogel (en effet, la technique de LAURELL se pratique sur gel d'agarose).

b) description :
Sur le cellogel est disposée une couche très fine et homogène d'anti-serum monospécifique de concentration fixe.
Les antigènes sont amenés à migrer sur le cellogel par un champ électrique. Sous l'influence contraire du courant d'électrophorèse vers l'anode et du flux d'endosmose vers la cathode, le déplacement des anti-corps devient nul.

Le flux d'endosmose est toutefois trop peu important pour arrêter la migration de la plupart des antigènes vers l'anode. La migration de l'antigène, correspondant à l'anti-serum vers l'anode lorsque la concentration atteint le point d'équivalence.

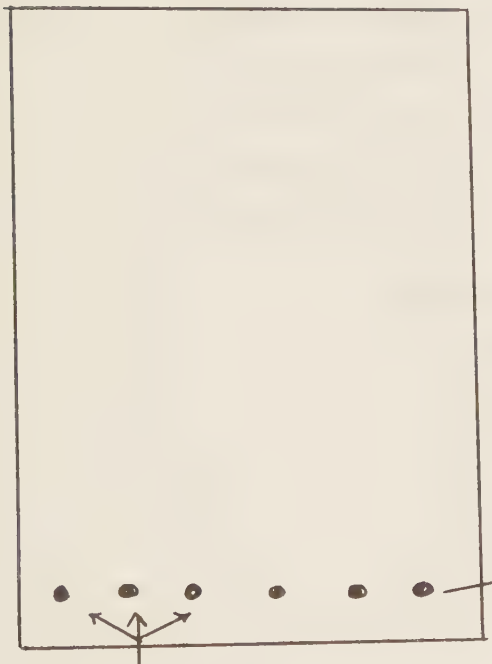
Pendant la diffusion et l'électrophorèse, les anticorps répandus sur le cellogel, forment des complexes avec les antigènes correspondants. Tant que l'antigène et l'anticorps ne sont pas à leur point d'équivalence, le complexe formé ne précipite pas mais reste soluble. Les complexes solubles vont migrer sous l'effet du champ électrique. A un certain point, une quantité équivalente d'anticorps s'est combinée à l'antigène, le complexe précipite et reste sur place.
La surface comprise à l'intérieur de la ligne de précipitation est proportionnelle à la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon.
On peut donc estimer la quantité de protéïnes présente dans l'échantillon, par référence à une courbe d'étalonnage précédemment établie sur trois serums étalons.

Avantages de la méthode :

- appareillage simple
- coût modique en réactif (2 F.)
- très grande sensibilité supérieure à l'immunodiffusion radiale
- reproductibilité et précision sous réserve de :
  - . obtenir des anti-serums et des serums étalons bien déterminés
  - . de pratiquer des lectures précises
  - . d'avoir une bonne méthode d'évaluation des surfaces des fusées.
    (nous considérons le produit : hauteur maximum X largeur maximum).

.../...

ELECTRO-IMMUNO-DIFFUSION SUR CELLOGEL

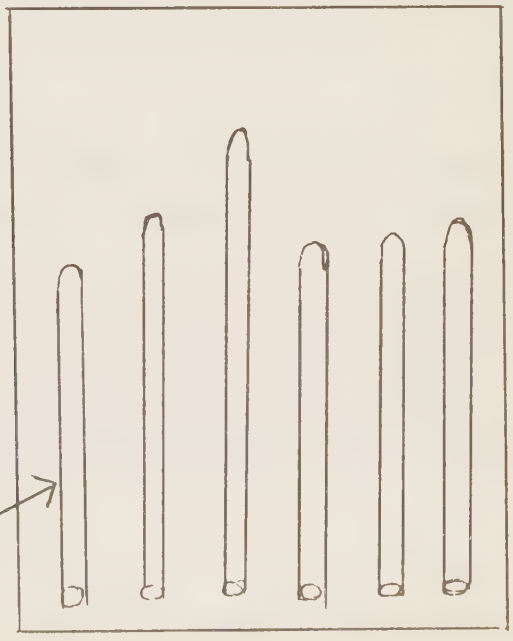


Petit rectangle de cellogel sur lequel est déposée une couche homogène et fine d'anti-serum monospécifique (Anti IgA ou anti-transferrine).

Petite cupule où est déposé le serum à analyser.

3 serums de concentrations connues

4 heures en cuve à électrophorèse + coloration



Fusées dont la surface est proportionnelle à la concentration en protéine du serum analysé.

2°) Nous parlerons ensuite d'une méthode très employée il y a 4 ou 5 ans, par ARON et Collaborateurs, l'électrophorèse en gel de polyacrylamide, selon la technique d'ORNSTEIN et DAVIS, avec integration automatique des courbes au moyen du chromoscan (LAMY et VARGUES CR Soc. biol. 1967 - 161 - 2021).

Cette technique est beaucoup plus sensible que l'électrophorèse sur papier, car le fractionnement se fait non seulement en fonction de la charge, mais aussi en fonction de la mobilité à travers les pores du gel.

On y distingue par ordre de mobilité décroissante :

- un disque de préalbumine
- un disque d'albumine
- un disque d'alpha 1 globulines
- la transferrine
- la B_1 A globuline
- une masse où se groupent : gamma A
  gamma 6
  alpha 2
  certaines Béta
- enfin deux disques séparés d'alpha 2 M et de gamma M.

Les résultats sont exprimés en gramme par litre.

On calcule par une électrophorèse sur papier la concentration du serum en globulines. Avec l'integrateur du chromoscan on mesure le rapport de la surface d'un pic donné à la surface de la totalité des globulines.

3°) La troisième méthode la plus rédente et la plus employée est l'immuno-diffusion radiale en plaque de gelose de Partigen.
Un anti-serum monospécifique est ajouté à la gelose avant de verser celle-ci sur la plaque où elle va former un gel. Cela signifie que l'ensemble de la couche de gelose contient une certaine concentration d'anti-serum, supposée homogène.

.../...

Les échantillons sont placés dans des cupules et les protéines diffusent dans la couche de gel de gelose, où la protéine (antigène) contre laquelle est dirigé l'anti-serum précipite à son point d'équivalence.

Le carré du diamètre de l'anneau de précipitation est proportionnel à la teneur en protéines de l'échantillon.

- 50 heures de diffusion sont nécessaires.
- 12 trous sont pratiqués dans la gelose dont 3 pour 3 serums étalonnés en protéines (de concentration connue).
- sur l'axe des abcisses on porte les concentrations.
- sur l'axe des ordonnées, on reporte le carré du diamètre.
- on obtient 3 points en disposition linéaire ; il est facile alors, connaissant le carré d'un diamètre de précipitation, de connaître la concentration en protéines.

III - OBSERVATIONS ET RESULTATS

1°) Recrutements :

a) Les serums témoins ont deux sources d'approvisonnement :
- le service du Professeur BESANÇON à l'Hôpital Broussais
- la banque du sang dans ce même Hôpital à PARIS.

b) Les serums de sujets alcooliques, non cirrhotiques, nous ont donné le plus de mal. Ils proviennent :
- du service du Professeur BESANÇON à Broussais
- du service du Professeur HOUSSET avec la bienveillance du Professeur PETITE (à Broussais)
- du service psychiatrique de l'Hôpital Saint-Anne à PARIS.
- les associations de buveurs guéris, ou les centres de dépistage de grandes entreprises nationnalisées, nous ont été difficilement utilisables.

.../...

c) Les serums de cirrhotiques alcooliques ont été prélevés dans différents Hôpitaux parisiens :

- à Broussais : Professeur BESANÇON
  Professeur HOUSSET
  Professeur PETITE.
- à Cochin : Professeur GUERRE
  Professeur PEQUIGNOT.

2°) Critères de définition des classes de malades :

A) Causes d'erreurs :

Elles seront à éliminer par un petit interrogatoire préalable.

a) autres causes de l'augmentation des IgA

- l'âge : leur taux augmente de la naissance jusqu'à un âge voisin de la puberté.
  Après quoi, il reste stable jusqu'à la fin de la vie où il augmente.
  (rôle de l'alcoolisme dans cette augmentation ?).
- le sexe : les taux seraient plus élevés chez l'homme que chez la femme après la cinquantaine.
- rôle de l'origine ethnique.
- maladies :
  - myélome à IgA : rarissime augmentation énorme.
  - polyarthrite rhumatoïde
  - L.E.A.D.
  - trypanosomiase)
  - lèpre) peu fréquentes en France.
  - mycoses rares)
  - néphrites
  - schizophrénie
  - mais surtout, maladies bronchopulmonaires :
    + bronchite chronique
    + cancers
    + sarcoïdose
    + tuberculose, peut-être.

.../...

b) variations physiologiques de la transferrine

- ne varie pas avec l'âge
- augmente au troisième trimestre de la grossesse ou lors d'un traitement oestrogénique (variations faibles).
- chute de la Tf dans :
  - syndromes néphrotiques
  - l'hémochromatose primitive
  - thalassemie
  - drepanocytose.

Pour écarter le plus possible les causes d'erreurs et en particulier pour écarter les interferences bronchopulmonaires où les IgA sont élevées, il conviendrait :

- de considérer le rapport IgA/Tf et non pas IgA seulement.
- de ne considérer la méthode que comme un moyen de dépistage.
- de soumettre les sujets à de petits interrogatoires stéréotypés.
- ne considérer que des mêmes tranches d'âge dans une même région.

B) Exposé de critères choisis pour déterminer dans quel groupe classer les serums.

Nous avons retenu trois groupes distincts de malades que nous avons défini ainsi.

a) le groupe des sujets témoins définis comme suit :

- âge moyen entre 30 et 50 ans
- non alcooliques chroniques
- sans antécédents d'hépatopathies
- anitgène australie négatif
- bien portants
- sans pathologie bronchopulmonaire.

Ce groupe devant répondre à beaucoup de critères a été sélectionné grâce à la collaboration précieuse de la banque du sang d'un grand hôpital parisien.

.../...

Nous avons retenu une quarantaine de personnes.

b) le groupe des cirrhotiques :
Nous avions voulu établir un classement dans la gravité de la cirrhose tant en fonction de son stade qu'en fonction de la vitesse d'évolution.
De plus, nous avions voulu être exigeants pour définir les donneurs cirrhotiques.
Nous cherchions des malades présentant :
- un ou plusieurs arguments cliniques
- une notion d'exogenose
- une électrophorèse typique avec hypoalbuminémie et bloc Béta-Gamma
- un argument laparoscopique et une ponction biopsie du foie.

En fait, tous ces critères ont rarement été réunis chez nos malades, et nous nous sommes contentés de l'association de deux ou trois de ces paragraphes :
- exemple : . cirrhose décompensée + alcoolisme
. gros foie dur + alcoolisme + bloc Béta-Gamma
. alcoolisme + gros foie dur + ponction biopsie du foie.

De même, il ne nous a pas été possible de classer les cirrhoses en différents stades et nous nous sommes résignés à faire nos calculs sur un groupe unique de serum de cirrhotiques.

c) enfin, entre les deux, le groupe des alcooliques apparemment non cirrhotiques.
Rien n'est plus difficile que de déterminer le moment à partir duquel le sujet devient alcoolique, et une fois que cela eut été fait, il nous a été très difficile de trouver de tels sujets et de pratiquer une prise de sang.

.../...

De plus ces sujets devaient répondre à d'autres critères :

- absence d'hépatopathies ou d'antécédents hépatiques
- absence de maladies bronchopulmonaires
- âge entre 30 et 50 ans
- absence de néphrite
- sexe masculin.

cela pour supprimer toute autre cause que l'alcoolisme dans l'augmentation des IgA.

3°) Résultats par catégorie

- tableau IgA, Tf, $\frac{IgA}{Tf}$ - des témoins
  - des alcooliques
  - des cirrhotiques.

- tableau récapitulatif avec moyennes et écart-type dans les trois classes.

.../...

Résultats du dosage du taux d'IgA, de Transferrine et rapports R = $\frac{IgA}{Tf}$ sur les serums de 45 témoins en E.I.D.

Noms	IgA mg/l	Tf mg/l	Rapport IgA/Tf
The...	424	280	1,5
Rob...	432	390	1,1
Témoins banque du sang	400	344	1,15
"	360	268	1,34
"	448	276	1,62
"	240	308	0,78
"	160	308	0,52
"	264	268	0,98
"	240	288	0,83
"	232	300	0,77
"	368	328	1,12
"	264	316	0,83
"	320	328	0,97
"	264	316	0,83
"	240	328	0,73
"	368	316	1,16
"	264	272	0,97
"	240	228	1,05
"	224	304	0,73
"	216	328	0,65
"	252	328	0,70
"	236	292	0,83
MAL...	120	221	0,54
TAR...	312	236	1,32
DEB...	291	293	0,99
Témoins banque du sang	144	256	0,56
"	176	320	0,55
"	320	240	1,23
"	144	184	0,78
"	260	184	1,41
"	164	200	0,82
"	130	224	0,58
"	188	320	0,58
"	260	240	1,08
"	164	256	0,64
"	188	212	0,88
"	140	360	0,38
"	140	200	0,7

.../...

Noms	IgA mg/l	Tf mg/l	Rapport IgA/Tf
moins banque du sang	176	256	0,68
"	172	296	0,58
"	172	332	0,51
"	172	256	0,67
"	210	256	0,85
"	188	332	0,56
"	188	180	1,04
nombre de cas 45			
moyenne et écart-type	242 $\pm$ 85	279 $\pm$ 50	0,87 $\pm$ 0,29
(sous réserve, voir texte)			

Résultats du dosage du taux d'IgA de la transferrine et du rapport $R = \frac{IgA}{Tf}$ sur les serums de 30 alcooliques non cirrhotiques en E.I.D.

Noms	IgA mg/l	Tf mg/l	R
Kov...	240	192	1,2
Reu...	344	414	0,83
Cre...	344	248	1,4
Lur...	480	212	2,26
Scho...	239	206	1,16
Ban...	239	255	0,93
Bed...	261	274	0,95
Mov...	291	293	0,99
Mun...	205	236	0,80
Leb...	268	296	0,90
Fon...	424	230	1,83
Gob...	340	240	1,41
Del...	410	220	1,84
Rao...	448	204	2,19
Cel...	240	212	0,82
Dem...	680	136	5
rum laparoscopie	248	256	0,96
"	188	148	1,27
Bou...	288	200	1,42
rum laparoscopie	168	200	0,84
Sir...	188	256	0,73
Van...	604	164	3,68
Bel...	220	164	1,34
Bou...	376	164	2,29
Ben...	610	240	2,54
Fou...	255	195	1,30
Gel...	660	204	3,27
Dur...	320	246	1,30
Mil...	350	200	1,75
Fav...	239	206	1,16
mbre de cas 30			
yennes et écart-type	339 $\pm$ 141	224 $\pm$ 53	1,61 $\pm$ 0,95
us réserve (voir texte)			

Résultats du dosage du taux d'IgA de la transferrine et du rapport $R = \frac{IgA}{Tf}$ sur les serums de 33 cirrhotiques en E.I.D.

Noms	IgA mg/l	Tf mg/l	R = IgA/Tf
Go...	480	170	2,8
Le...	232	170	1,36
Le...	680	272	2,5
Ko...	648	212	3,03
Ma...	299	240	1,24
Se...	346	282	1,22
Ce...	346	240	1,44
Du...	512	104	4,92
Pi...	312	128	2,45
Shi...	479	-	-
Ca...	346	282	1,22
Be...	564	169	3,33
De...	376	124	3,3
Mu...	188	-	-
Gu...	564	224	2,51
Mer...	752	128	5,87
Si...	1720	144	11,94
She...	760	224	3,39
Le...	1080	160	6,75
Re...	1080	128	8,43
Co...	564	320	1,76
De...	520	156	3,33
Cha...	752	108	7
The...	468	412	1,14
Be...	376	164	2,24
Du...	520	192	2,70
Jal...	448	180	2,48
Zur...	308	152	2
Ce...	1060	208	5,1
Si...	640	220	2,9
She...	645	248	2,2

.../...

Noms	IgA mg/l	Tf mg/l	R= IgA/Tf
Va...	545	240	2,27
De...	492	96	5,12
Me...	720	152	4,73
Ta...	644	200	3,22
ombre de cas 33			
oyennes et écart- ype	585 $\pm$ 292	204 $\pm$ 30	3,36 $\pm$ 2,34
ous réserve (voir exte)			

	IgA mg/l		Tf mg/l		R IgA/Tf	
	$\bar{M}$	σ	$\bar{M}$	σ	$\bar{M}$	σ
TEMOINS n = 45	242	± 85	279	± 50	0,87	± 0,29
ALCOOLIQUES n = 30	339	± 141	224	± 53	1,61	± 0,95
CIRRHOTIQUES n = 33	585	± 292	204	± 30	3,36	± 2,34

Détermination en E.I.D. du taux d'IgA, de Tf et du rapport $R = \frac{IgA}{Tf}$.

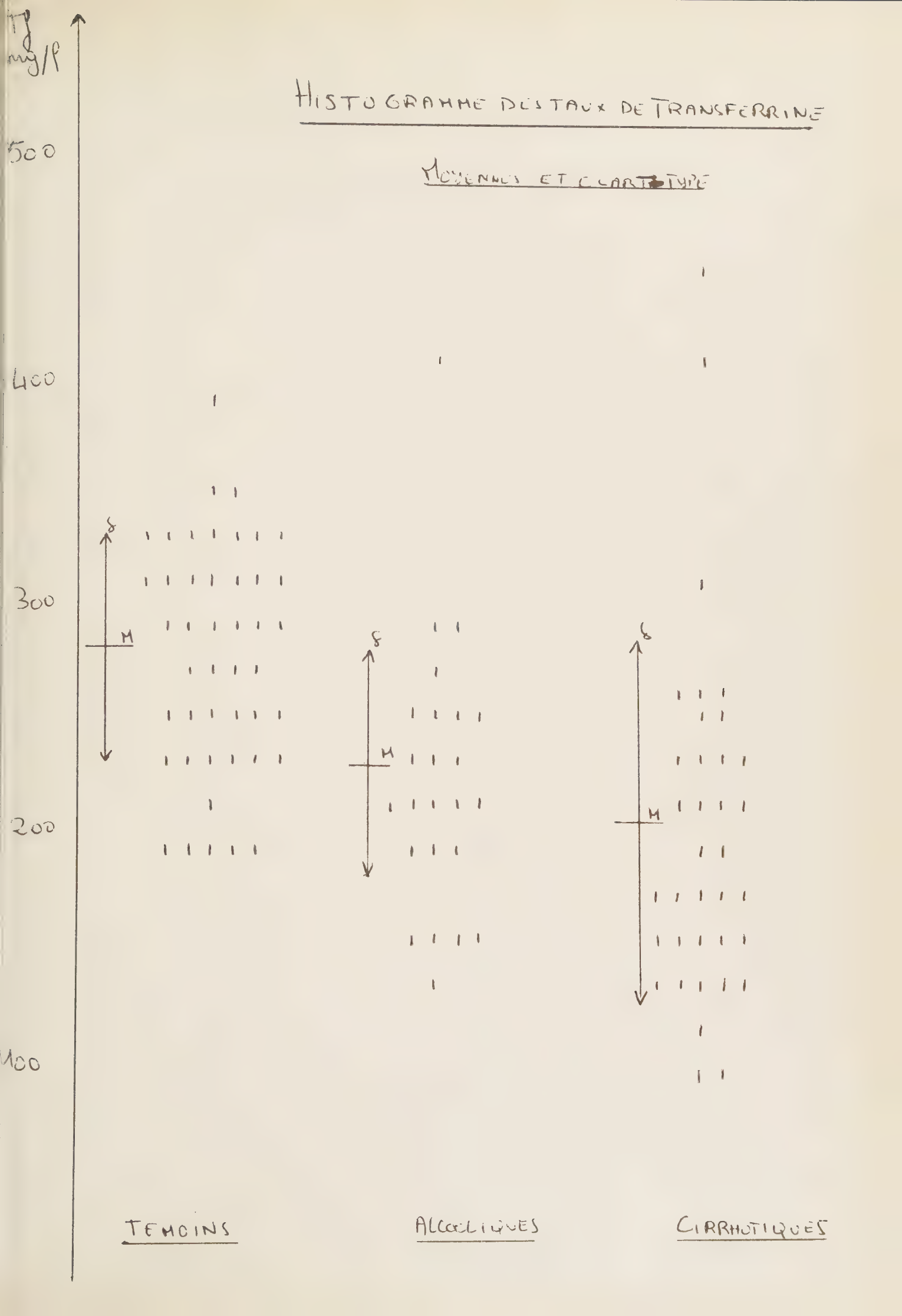
Moyennes et écart-type pour une population de :

- 45 témoins
- 30 alcooliques
- 33 cirrhotiques.

(sous réserve, voir texte).

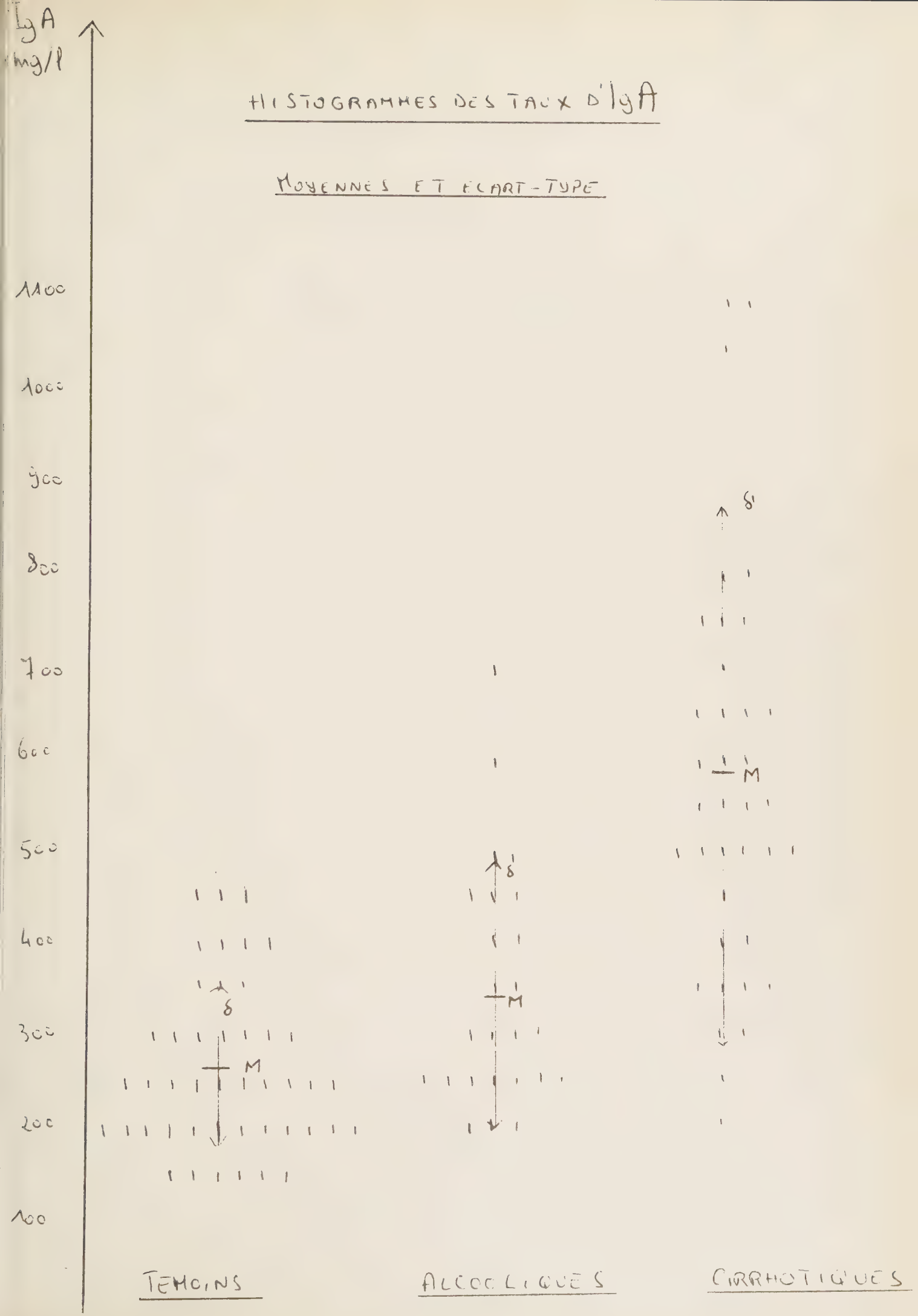
HISTOGRAMME DES TAUX DE TRANSFERRINE

MOYENNES ET ECART-TYPE



HISTOGRAMMES DES TAUX D'IgA

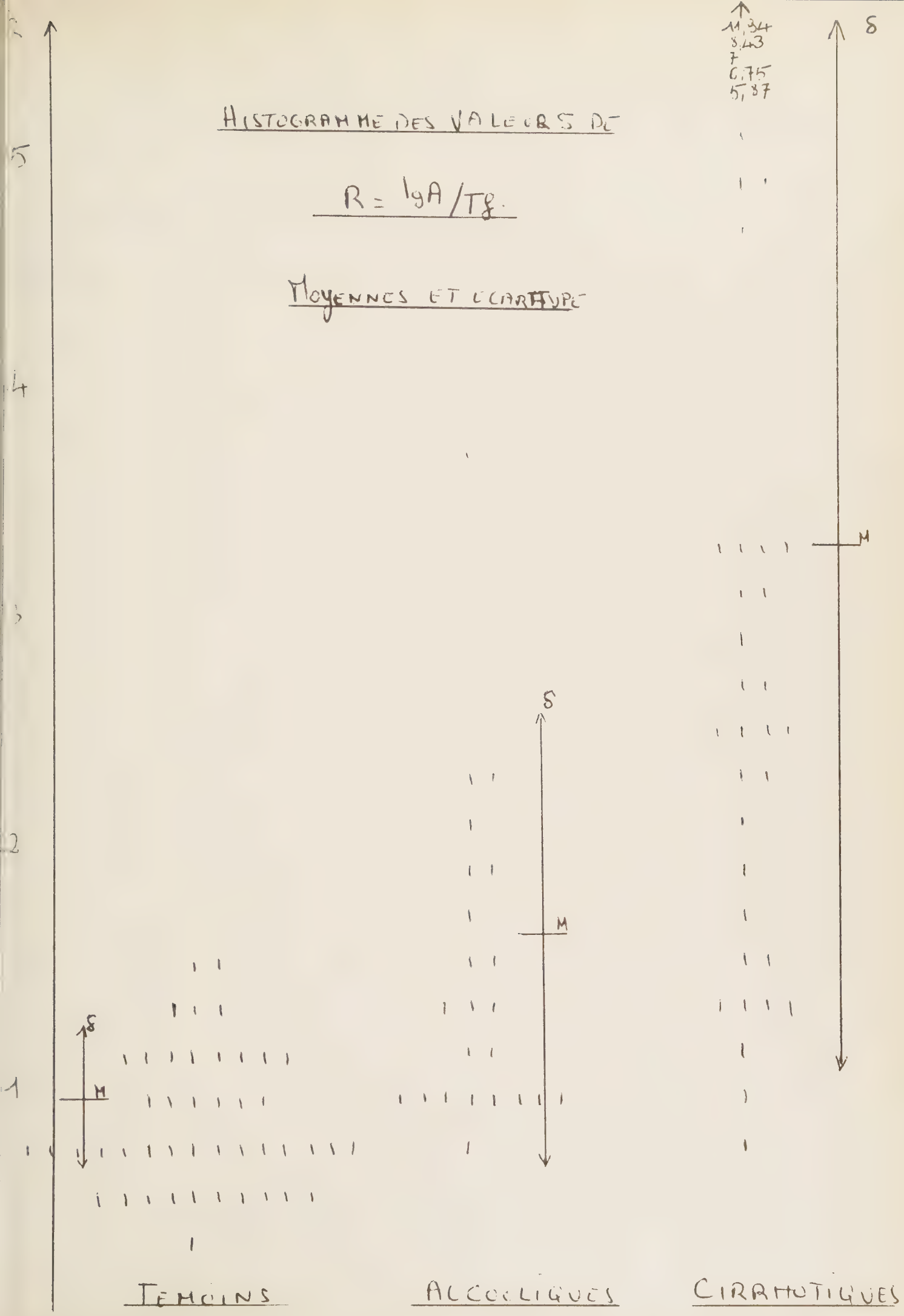
MOYENNES ET ECART-TYPE



HISTOGRAMME DES VALEURS DE

$R = \lg A / Tg.$

MOYENNES ET ECART-TYPE



Epreuve graphique de la mortalité d'une distribution. Construction de la droite de HENRY

---

1) Témoins (coefficient R)

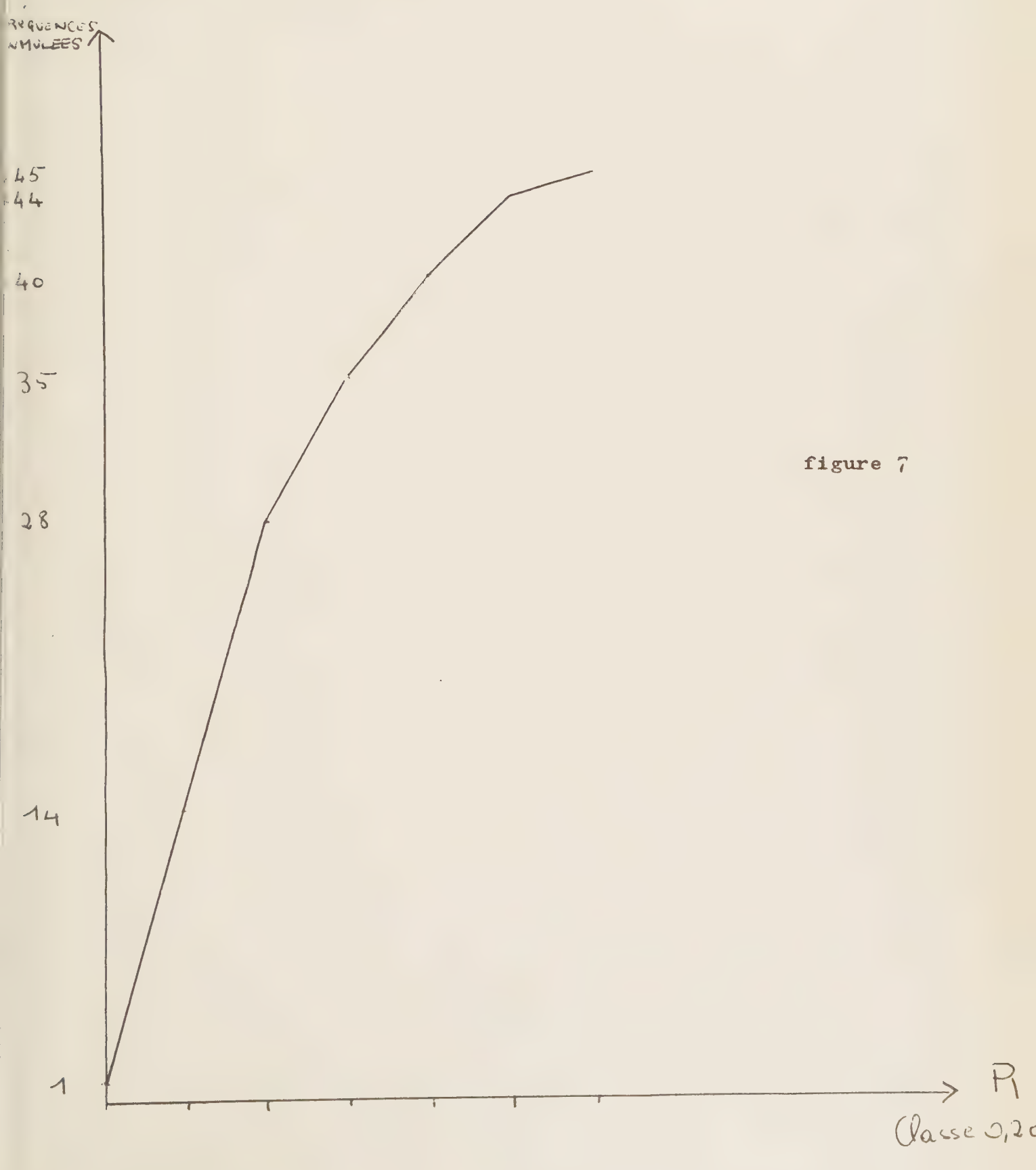


figure 7

2) Alcooliques (R)

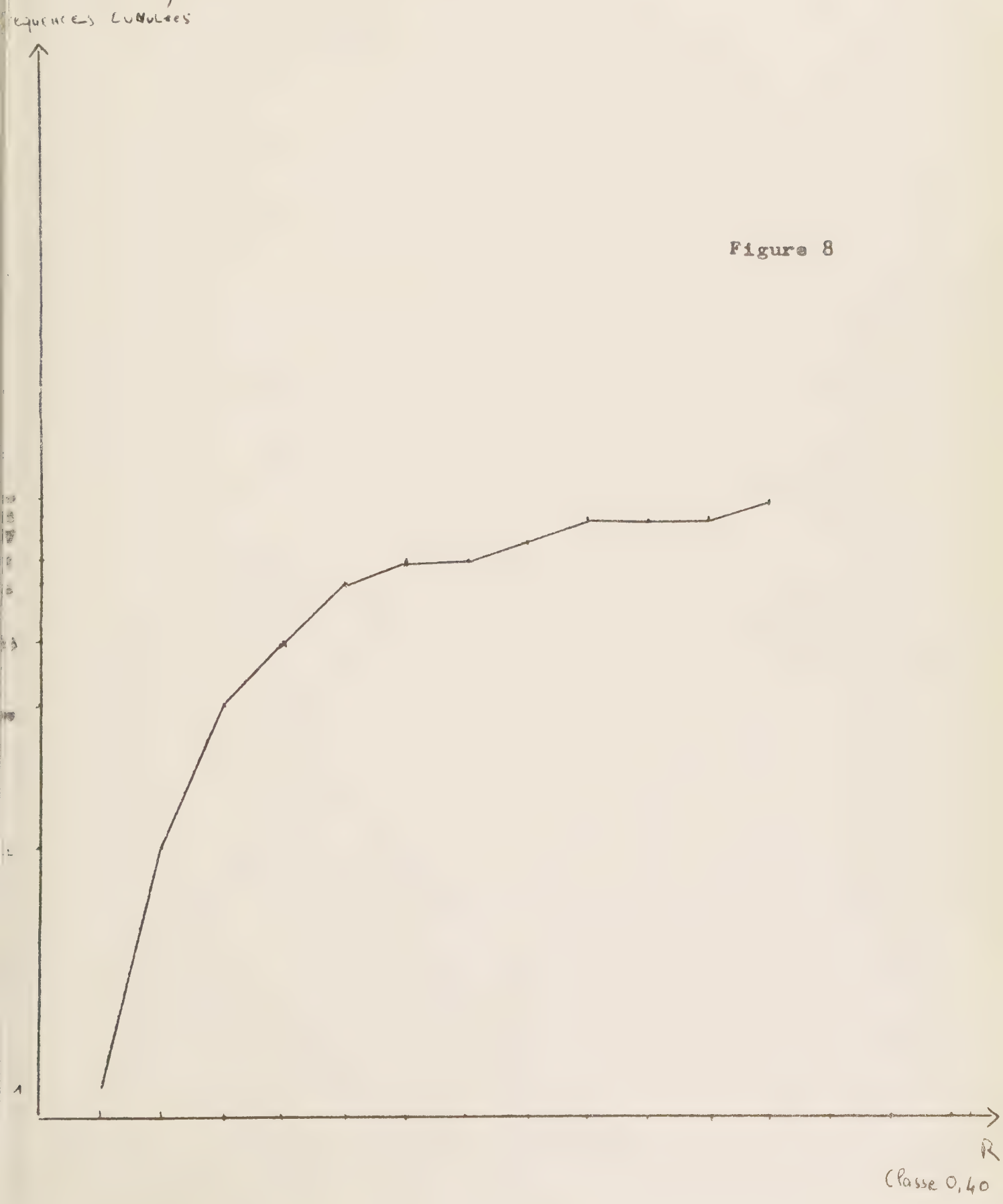


Figure 8

3) Classe des Cirrhotiques (R)

Figure 9

4°) Calculs statistiques :

- Test de rapport des variances
(test paramétrique critiquable ici car les populations n'ont pas une distribution normale).

Si l'on appelle A = Témoins
B = Alcooliques
C = Cirrhotiques

$$F \begin{matrix} A \\ B \end{matrix} = \frac{S^2 A}{S2\ B}$$

$$F \begin{matrix} B\ (29) \\ A\ (44) \end{matrix} = \frac{0,90}{0,084} = 10,75 \quad \text{table } 1,94\ p^T = 2,5\ \%$$

$$F \begin{matrix} C\ (32) \\ B\ (29) \end{matrix} = \frac{5,73}{0,90} = 6,36 \quad \text{table } 2,09\ p^t = 2,5\ \%$$

Dans les deux cas les rapports sont supérieurs à F_3 dans la table $p^t = 2,5\ \%$.

Donc, les variances de A et B d'une part, de B et C d'autre part, diffèrent significativement.

- Test non paramétrique
Les populations n'ayant pas une distribution normale, nous ferons ici une analyse non paramétrique. Nous proposons un MANN-WHITNEY U TEST appliqué aux grands échantillons.

Si N = n^bre de serum

R_1 = total des rangs dans un échantillon

$$U = N_1\ N_2 + \frac{N2\ (N2 + 1)}{2} - R_1$$

$$Z = \frac{U - \frac{N1\ N2}{2}}{\sqrt{\frac{N1\ N2\ (N1 + N2 + 1)}{12}}}$$

1) - Populations TEMOINS et ALCOOLIQUES (considérant IgA/Tf)

$N_1 = 44$ $N_2 = 28$) Les populations sont donc non significativement différentes.
$R_1 = 1055$)
$Z = 0,19$ $p = 0,4247$)

.../...

2) - Populations TEMOINS et CIRRHOTIQUES (IgA/Tf)

$N_1 = 44$ $N_2 = 35$

$R_1 = 858$

$Z = 5,35$ p 0,00003

Les deux populations sont donc significativement différentes.

3) - Populations ALCOOLIQUES et CIRRHOTIQUES (IgA/Tf)

$N_1 = 28$ $N_2 = 35$

$R_1 = 556$

$Z = 7,8$ p 0,00003

Les deux populations sont donc très significativement différentes.

Ce calcul confirme la valeur de la technique proposée pour différencier les cirrhotiques des autres groupes.

- La construction des droites de HENRY montre donc :
  - une distribution subnormale pour la population témoin
  - une distribution non normale pour les populations alcooliques et cirrhotiques.

L'ENSEMBLE DES RESULTATS MONTRE QUE :

1) La technique de dosage employée semble fiable, précise, et sensible quoique délicate.
2) Les populations n'ont pas une distribution normale.
3) La cirrhose ne peut être affirmée de façon certaine à partir d'un seuil minimal précis du rapport R, du fait des importants chevauchements que présentent les différentes populations.

.../...

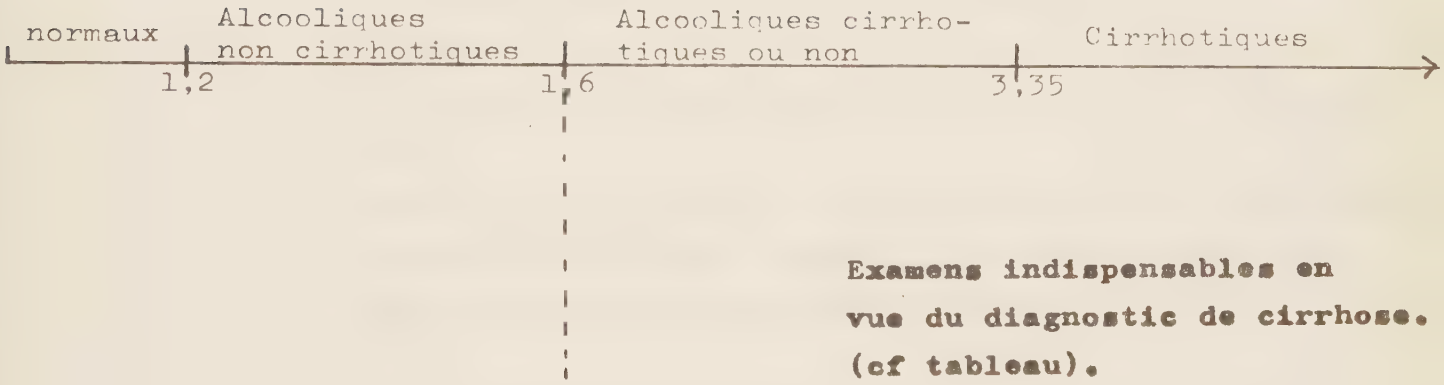
Tout au plus, pouvons nous parler de zone de présomption. Cette zone se situerait autour de la limite supérieure de la classe des alcooliques définie plus haut.

4) Malgré ces chevauchements, ces populations sont significativement différentes.

5) En pratique on peut déterminer 4 grandes zones :

- gens normaux $R < 1,20$
- de $1,20 < R < 1,60$ = alcooliques vraissemblablement non encore cirrhotiques.
- de $1,60 < R < 3,35$ = zone d'incertitude = alcooliques cirrhotiques ou non appelant les examens complémentaires.
- $R > 3,35$ = zone de très forte présomption de cirrhose alcoolique du foie.

SCHEMA :



Examens indispensables en vue du diagnostic de cirrhose. (cf tableau).

Les quatre grandes zones de valeur de R = IgA/Tf

5°) Observations instructives et discordantes :

A) Mme DER... 55 ans, hospitalisée à Broussais pour une cirrhose décompensée évidente et d'origine éthylique.

Le taux des IgA était élevé à 376 mg/l
La transferrine était effondrée à 124 mg/l
Le rapport R = IgA/Tf à 3,3 faisait à lui seul le diagnostic de cirrhose alcoolique.

.../...

B) Cas de Discussion de Mr VAN... hospitalisé à Broussais pour bilan d'un alcoolisme.

A l'examen, n'existait aucun signe de cirrhose du foie mise à part une petite hépatomégalie.
La biologie (électrophorèse des protides) était un peu perturbée (baisse légère de l'albumine, augmentation des Béta globulines), mais non démonstrative.

Par contre, IgA = 604 mg/l
Tf = 164 mg/l
R = 3,68

Le diagnostic de cirrhose alcoolique était fait, confirmé par l'histologie.

C) Par contre, il existe aussi des observations discordantes, telle celle de Mme GUE..., hospitalisée dans le service pour une cirrhose manifeste, décompensée, survenant plusieurs années après une hépatite virale.
Aucune intoxication alcoolique avouée.
Le taux d'IgA était à 568 mg/l donc très haut, mais la transferrine à 328 mg/l, le rapport IgA/Tf étant à 1,65.

Pourquoi cette cirrhose méta-ictérique, non alcoolique, donnait-elle une IgA sihaute, une Tf si élevée et un rapport intermédiaire, nous l'ignorons.

D) Quelques exemples d'erreurs devant être évitées par le questionnaire précédant les dosages :

a) - sujets très âgés

Mr SPI... 80 ans IgA = 720 mg/l
Mr PET... 88 ans IgA = 540 mg/l
Mme DUF.. 85 ans IgA = 464 mg/l

Le rôle de l'alcoolisme sur ces augmentations tardives reste une question posée (ARON).

b) - femme au 3eme trimestre de la grossesse

Mme BAU... Tf = 560 mg/l, donc très augmentée.

c) - pneumopathies

Mr BER... bronchite chronique, IgA = 650 mg/l.

.../...

6°) Comparaisons avec les données de la Litterature :

A) Nous débuterons par l'énoncé des résultats obtenus par la méthode d'électrophorèse en gel de polyacrylamide, aujourd'hui abandonnée.

Réf. = ARON, VARGUE, WEILL, LAMY,
ds. Maladies de l'appareil digestif
tome 58 n° 1 et 2
janvier-février 1969.

Après une étude portant sur plus de 3000 serums, ARON recommande pour l'étude de la cirrhose alcoolique de ne suivre que trois paramètres, parmi lesquels les IgA et la transferrine.

Dans la cirrhose confirmée, on observe une diminution du pic n° 5 (transferrine), une augmentation considérable des immunoglobulines A et G situées dans la zone 3 (alpha + Béta + gamma globulines).

Dans 126 cirrhoses cliniquement évidentes, ascitiques, ou non ascitiques, il a été retrouvé ces anomalies dans 125 cas alors que l'électrophorèse sur papier n'était perturbée que dans 96 cas.

L"effondrement du pic 3 de la transferrine correspond à la gravité de la cirrhose. ARON souligne ici la valeur pronostique du taux de la transferrine.

Lorsque l'état cirrhotique ne se manifeste chez un alcoolique que par une hépatomégalie, les anomalies sont moins accusées. On n'observe pas de baisse de la transferrine, mais un pic revelateur au niveau des IgA.

Dans une série de 92 malades ayant une hépatomégalie, 87 électrophorèses en gel de polyacrylamide sont perturbées, alors que l'électrophorèse sur papier n'est anormale que 27 fois.

Sur 40 de ces malades chez lesquels une ponction biopsie du foie a prouvé la cirrhose, 87 % avaient un gel de polyacrylamide révélateur.

Cette élévation préferentielle des IgA est caractéristique de la cirrhose d'étiologie alcoolique.

.../...

Dans l'hépatite virale, dans la cirrhose méta-ictérique, dans l'hémochromatose idiopathique, on ne retrouve pas le profil électrophorétique décrit. Dans l'hépatite virale et dans la cirrhose méta-ictérique, par exemple, il y a une élévation plus ou moins considérable des IgG.

Limites de la méthode :

L'appréciation des cas limites est délicate. Si l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide est actuellement une excellente technique d'analyse globale des protéines sériques, elle ne permet pas d'évaluer des modifications légères mais significatives des différentes expèces globuliniques. L'interprétation des profils aisée chez le cirrhotique, est beaucoup plus difficile chez l'alcoolique, ce qui limite son emploi. Une tentative de quantification par integration densitométrique des bandes colorées, s'étant soldée par un échec, ARON et Collaborateurs décidèrent de remplacer l'électrophorèse par un dosage immunologique des IgA et de la Transferrine.

B) La deuxième méthode exposée sera l'immuno-diffusion radiale à l'aide de plaques de gélose de Partigen. Elle est actuellement la plus utilisée.

a) Nous exposerons un travail fait à LILLE.

Référence : . Nouvelle Presse Médicale
. 20-22 juillet 1974 n° 28 page 1751
. auteurs : FRUCHART, JAILLARD, SEZILLE - PARIS.

Cette étude a été effectuée sur 136 sujets dont 83 hépatites alcooliques chroniques classées comme suit ;

- A : Cirrhose éthylique non décompensée.
- B : Première décompensation.
- C : plusieurs épisodes de décompensation.
- D : cirrhose évolution maligne.
- E : hépatite chronique latente (diagnostic à la ponction biopsie du foie).

.../...

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant où :

- M est la moyenne,
- S l'écart-type
- P la signification des différences par rapport aux témoins.

Groupes	IgA g:l M ± S	P	Tf g/l M ± S	P	IgA/Tf M ± S	P
A 14 sujets	4,6 ± 0,7	0,001	1,3 ± 0,2	0,001	3,6 ± 0,7	0,001
B 30 "	7 ± 1,1	0,001	1,3 ± 0,2	0,001	6,4 ± 1,1	0,001
C 18 "	8 ± 1,5	0,001	1,4 ± 0,2	0,005	6,4 ± 1,9	0,001
D 17 "	11,1 ± 1,5	0,001	0,8 ± 0,1	0,001	15,1 ± 3	0,001
E	4,4		2		2,2	
Témoins 15 "	2,3 ± 0,4		1,9 ± 0,2		1,2 ± 0,2	

.../...

b) Un travail plus important a été effectué à TOURS, par l'équipe ARON-LAMY-WEILL, où les sujets ont été divisés en trois catégories (P.M. 19/2/71 n° 8).

1° - Sujets témoins : constitués de deux groupes de population active :

- pompiers
- personnel ouvrier trié à la médecine du travail.

2° - Des cirrhotiques alcooliques confirmés.

3° - des sujets éthyliques.

Au terme de ce travail, les patients présentant un processus cirrhotique, présenteraient un taux d'IgA supérieur à 4,3 g/l, un taux de Tf inférieur à 1,6 g/l, et un rapport IgA/Tf supérieur à 1,9 qui serait hautement significatif.

Des histogrammes ont été effectués, qui ont montré que la distribution des IgA chez les alcooliques n'obéit vraissemblablement pas à la loi de distribution normale. On observe en effet une courbe asymétrique, qui traduit la répartition de ces sujets éthyliques en deux populations :

- l'une avec un taux normal,
- l'autre avec un taux élevé.

On pense actuellement que les individus passent d'une population à l'autre au cours de l'atteinte hépatique.

Les transferrines sériques des éthyliques et des témoins paraissent avoir la même loi de distribution.

Les transferrines éthyliques sont statistiquement plus faibles que celles des témoins.

.../...

La moyenne et la déviation standard des transferrines sériques de 139 éthyliques ont été respectivement de 1,92 et 0,40 g/l, tandis que les valeurs correspondantes de 115 témoins sont de 2,40 g/l et 0,39 g/l.
Ces résultats prouvent que la diminution du taux de transferrine sérique est très précoce et qu'elle est progressive, car dans les cirrhoses ascitiques on obtient des valeurs beaucoup plus petites, le plus souvent inférieures à 1.

Ces résultats seraient aussi des arguments supplémentaires en faveur de l'utilisation du dosage de la transferrine sérique comme test pronostic de l'évolution des cirrhoses même dans leur phase pré-clinique.

Au terme de ce travail, 1 éthylique sur 3 possédait un rapport IgA/Tf anormal, analogue à celui des cirrhoses cliniquement confirmées.
Des ponctions biopsies hépatiques de contrôle, relevant la fibrostéatose, incitaient à conclure que ces 33 % d'alcooliques dépistés sont précisément ceux qui sont en train de développer une cirrhose.

En conclusion,

IgA supérieure à 4,3 g/l
Tf inférieure à 1,9 g/l
R supérieur à 1,9

correspondent pour ARON et Coll. à l'évolution silencieuse d'une cirrhose. La proportion de cirrhoses latentes a été évaluée à 4,3 % dans une population témoin et à 32,3 % chez les alcooliques.

.../...

C) Nous parlerons enfin de l'immuno-électrophorèse bidimensionnelle (REBEYROTTE, BAUJAT, LABBE, Pathologie, Biologie 70), appliquée à l'étude de l'ensemble des protéïnes sériques à propos de quelques cirrhoses.

Cette méthode très particulière est à réserver à l'étude de cas spécialement délicats. Les auteurs retrouvent en général l'augmentation des IgA et la chute de la transferrine.

Mais cette technique originale pourrait difficilement être employée à grande échelle dans le dépistage systématique des cirrhoses, sujet qui nous interesse dans ce travail.

IV - DISCUSSION

1°) Valeur technique de la méthode :

A) Nouveauté de la méthode proposée (en collaboration avec Monsieur BARRES).

La méthode possède deux aspects nouveaux :

a) Nous avons employé l'électro-immunodiffusion en fusée de LAURELL, sur cellogel, alors que jusque là les recherches ont été effectuées en immunodiffusion radiale, et commencent à l'être par la méthode de LAURELL sur agarose pré-tamponné industriellement en anti-serum.

b) Nous avons de plus adapté la technique de LAURELL qui classiquement se fait sur un gel d'agarose. En effet, nous employons un cellogel sur lequel nous déposons une couche fine d'antiserum (solution très économique en antiserum, et d'autre part nous n'avons pas tous les inconvénients dus à l'assèchement des plaques de gel d'agarose au cours de la migration).

B) Nous proposons une comparaison en un tableau, avec toutes les autres méthodes employées.

	Immuno-diffusion Radiale	LAURELL agarose	technique nouvelle LAURELL cellogel
lais des sultats	48 H. (IgA)	8 H. - 10 H.	4 H. - 5 H.
nsibilité	+	+++	++
écisions	+	+++	++
tériel impor- t nécessaire	0	Cuve thermostatée Redresseur de courant	Cuve à électro. simple. Redresseur
éparatifs	Matériel préparé à l'avance et commer- cialisé	Préparatifs impor- tants et délicats, actuellement en cours d'industrialisation	Préparation importante.
	Technique simple adaptée à la routine	Technique délicate de "Référence"	Technique délicate + simple + rapide que sur agarose
ix total	Peu élevé		Très bas (3,00 F.)

TABLEAU COMPARATIF DES DIFFERENTES METHODES DE DOSAGE DES IgA ET DE LA TRANSFERRINE, LES PLUS EMPLOYEES

C) Perspectives d'avenir technique :

Cette méthode, de part sa rapidité, sa sensibilité et surtout son prix de revient très bas, pourrait être un moyen très efficace dans le dépistage précoce des cirrhoses alcooliques du foie.

Il est à prévoir qu'en multipliant le nombre de dosages simultanés, et surtout, qu'en industrialisant la fabrication de cellogel déjà imprégné d'anti-serum, on diminuera le temps de manipulation et qu'on pourra appliquer en routine cette méthode au dépistage des cirrhoses alcooliques.

Il reste bien sûr à savoir si le dépistage de celles-ci systématiquement dans des populations à haut risque d'alcoolisme serait ou non organisable. Il n'est pas difficile d'imaginer l'application à grande échelle de cette méthode pratique, économique, car elle ne demande aucune hospitalisation et que son prix de revient en réactifs est très bas.

2°) Valeur clinique :

A) Aspects positifs de la méthode. Zone de valeurs prêtant à discussion.

Nous avons défini 4 grandes zones selon les valeurs de R = IgA/Tf.

- gens normaux R 1,20
- 1,20 R 1,60 alcooliques vraissemblablement non cirrhotiques.
- 1,60 R 3,35 zone d'incertitude relative : alcooliques cirrhotiques ou non. Ces valeurs de R appellent des examens complémentaires.
- zone de très forte présomption = R 3,35.

Nous déterminons aussi une valeur de R = 1,60, à partir de laquelle les examens complémentaires sont indispensables. Nous y reviendrons.

Mais l'étude statistique et les histogrammes appellent quelques commentaires :

a) on pourrait tout d'abord argumenter la rigueur avec laquelle les classes de malades ont été déterminées.
A la lumière de ces résultats, il nous est apparu qu'il aurait peut-être été préférable, par exemple, de classer les cirrhoses en fonction de leur sévérité.

b) Force également nous a été de constater que certains malades choisis, possédaient à leur entrée, dans le service, des dossiers difficilement interprétables pour notre étude statistique.

c) L'augmentation du taux des IgA et la chute du taux de la transferrine, sont bien des phénomènes quasi spécifiques de la cirrhose alcoolique, mais ils ont lieu progressivement au cours de l'alcoolisation jusqu'à la cirrhose constituée. Ils s'accentuent encore durant l'aggravation de celle-ci.

Il serait donc difficile d'établir un seuil minimal précis du rapport R, à partir duquel on peut affirmer avec certitude le diagnostic de cirrhose. Ceci traduit le caractère progressif de l'atteinte hépatique.

Nous avons donc modifié le problème en définissant une valeur de R 1,60 à partir de laquelle les examens complémentaires au diagnostic de cirrhose sont indispensables.
A partir de cette valeur R = 1,60, se place jusqu'à R = 3,35, une zone de présomption, mais sans certitude.
Au delà de R = 3,35, le diagnostic de cirrhose alcoolique nous paraît certain.

.../...

B) Perspectives d'avenir en clinique :

a) combinaison de la méthode avec le dosage de la gamma-glutamyltranspeptidase.

Rappel : gamma glutamyltranspeptidase et pathologie hépatique.

Nous citerons la conclusion du Professeur P. BOIVIN au colloque international du 22 juin 1973 à PARIS :

"La gamma glutamyltranspeptidase dans l'exploration enzymatique des affections hépato-biliaires, possède une place bien particulière. Ses élévations ne sont pas corrélées avec celles d'enzymes de signification lésionnelle ou cytolytique, telles que les transaminases, l'O.C.T., la déshydrogenase glutamique, etc.. Elles ne sont qu'imparfaitement corrélées avec celles d'enzymes de signification cholostatique = phosphatases alcalines, leneine amino-peptidase, 5, uncléotidase. La signification physiopathologique des variations de la gamma-glutamyl sérique n'est pas encore établie avec certitude...

... Mais, sur le plan pratique, le dosage de la gamma-glutamyl revet une importance considérable du fait de sa simplicité et de sa sensibilité. L'augmentation de l'activité sérique signifie qu'il y a quelque chose d'anormal dans le fonctionnement hépato-biliaire, sans préjuger de la nature de l'anomalie." (Dans la grande majorité des cas, l'étiologie serait alcoolique).

Voici donc un test simple et sensible, sûr et pratique, explorant l'ensemble de la fonction hépatique, et il est logique de penser à une association entre ce test et le dosage des IgA et Tf, dans le dépistage des cirrhoses du foie :

.../...

- Dans le cas d'alcooliques connus, il faudrait à notre avis faire un dosage premier des IgA et de la Tf, qui est très spécifique de ce que l'on cherche (une cirrhose alcoolique du foie).
- Dans le cas d'une population tout venant, il faudrait d'abord détecter l'alcoolisme et cela par un dosage premier de la gamma glutamyltranspeptidase.

b) que faire en clinique si 1,60 R chez un alcoolique. Nous répondrons par un tableau schématique.

	Théoriquement	En réalité
Dosage gamma GT	OUI	NON
Electrophorèse des protides	OUI	NON
Taux Prothrombine	OUI	OUI
Albumine	OUI	OUI
T.O.G.D. + recherche V.O.	OUI	OUI
Laparo + P.E.F.	OUI	1,6 R 3,35 OUI 3,35 R NON
Désintoxication urgente	OUI ++	OUI +++

Ainsi, la détermination de R = IgA/Tf pourrait :
- précéder l'électrophorèse des protides, voir la rendre moins utile.
- éviter la laparoscopie (R 3,35).

En fait, cela est vrai si l'on ne considère que le diagnostic de cirrhose éthyl, mais la crainte d'une pathologie associée la fait souvent indiquer.

.../...

L'équilibre diététique retrouvé et l'arrêt de l'intoxication alcoolique ayant pour effet de faire baisser le rapport R = IgA/Tf (ARON et Coll.), ce qui traduirait une amélioration fonctionnelle hépatique, il serait bon de suivre le malade tous les ans en déterminant IgA, Tf et R.

Ainsi, en clinique, le dosage des IgA et de la transferrine pourrait être dans le cas du bilan d'un alcoolisme, prépondérante et pourrait décider et orienter les examens complémentaires.

3°) Signification biologique :

Nous ferons un bref rappel de l'anatomie pathologique des cirrhoses alcooliques ainsi que des désordres protéiques observés au cours de celles-ci.

A) Anatomie pathologique des cirrhoses alcooliques :

a) Macroscopiquement on observe :

- Soit une augmentation de volume du foie
- Soit une diminution
- Soit un aspect hypertropho-atrophique.
- Une dureté du foie
- Une surface irrégulière, nodulaire. Ces nodules sont clairs, plus ou moins uniformément répartis.

b) Microscopiquement :

Nous commencerons par donner la définition qui est histologique. En effet, la cirrhose associe et cela sans notion d'étiologie :

- une distinction plus ou moins étendue du parenchyme par lésions des hépatocytes.
- la formation de tissus cicatriciel donc d'une fibrose.
- une hyperplasie des hépatocytes restant sous forme de nodules de regeneration.

Cet état cirrhotique faisant suite au stade d'hépatite parenchymateuse diffuse à poussées repétées et prolongées.

.../...

+ Le nodule de régénération :
Il est formé par la régénération des hépatocytes à partir de la zone proche de la veinule terminale, mais aussi à partir d'îlots hépatocytaires persistant à côté des zones nécrosées. Les nouvelles travées cellulaires sont orientées en tous sens, réalisant un nodule séparé de la veine sus-hépatique et de l'axe portal par des branches de sclérose.
Le nodule de régénération est entouré d'une multitude de néo-vaisseaux formant une véritable dérivation porto-cave interne.

+ La sclérose :
d'intensité variable exprime la cicatrisation exagérée des zones de nécrose.
Le plus souvent elle réalise des lames d'épaisseur variable qui entourent les nodules de régénération.
Ailleurs, elle constitue de larges bandes cicatricielles.

+ Hépatocytes lésés :
présentant des aspects de ballonisation et de clarification du cytoplasme, de vacualisation ou du noyau,
avec des signes de régénération = cytoplasmebasophyle mitoses nombreuses, cellules binuclées.

Nous remarquerons pour conclure que la cirrhose éthylique peut se caractériser par la stéatose et des corps hyalins intra-cytoplasmiques dits de MALLORY.

B) Physiopathologie des cirrhoses :
Nous parlerons de trois éléments entrant dans la formation de la cirrhose.
a) insuffisance hépatocytaire:
c'est un signe qui accompagne le processus cirrhogène par lésions de l'hépatocyte sus décrites.
Ces lésions pouvant aller jusqu'à la nécrose cellulaire auront pour effet de stimuler le système réticulo-endothélial.

.../...

b) Rôle du système réticulo-endothélial :
qui réagit en une inflammation portale et périportale avec infiltration cellulaire considérable comportant deux sortes de contingents :

+ une prolifération lymphoplasmocytaire portale, qui intervient très peu dans la constitution de la cirrhose mais joue un rôle fondamental dans la modification de l'immunité que l'on pourra mettre en évidence, entre autre, par :
  - des tests cutanés,
  - des dosages d'Ig sériques.

  De plus, cette réaction inflammatoire, par le nombre de cellules mises en jeu par leur métabolisme important dérivant les matières énergétiques et le retentissement sur la micro-circulation, aggrave l'insuffisance hépatocytaire.

+ une prolifération fibroblastique
  qui nous interesse moins dans ce travail et qui va être à l'origine de la fibrose :
  - soit par l'aggregation de fibres collagènes pré-existantes,
  - soir par néoformation de fibres collagènes.

  La sclérose va fragmenter le parenchyme, vider les nodules, retentir sur la circulation hépatique.

  On distingue deux types de fibrose :
  - fibrose à bandes minces et riche en cellules susceptibles de regresser après arrêt de l'intoxication (théorique).
  - fibroses à bandes larges, pauvre en cellules et irréversible.

  L'inflammation et la sclérose retentissent l'une sur l'autre.

.../...

C) Lésions hépatiques dues à l'alcool :

a) Mécanisme de la toxicité de l'alcool sur l'hépatocyte :

Nous en dirons brièvement que l'alcool modifie l'équilibre du métabolisme lipidique au niveau de l'hépatocyte :

- par augmentation de la synthèse du cholestérol, deslypoprotéïnes, des acides gras et de leur estérification.
- par diminution de l'oxydation mitochondriale des graisses,

d'où la stéatose et l'hyperlipémie parfois rencontrées dans l'alcoolisme.

b) Conséquences histologiques de l'alcoolisme :

Nous signalerons pour ce chapitre le rôle majeur joué par la ponction biopsie de foie qui permet à tout instant de l'évolution, d'obtenir des instantanés de l'état hépatique.

Au microscope optique : prolifération conjonctive des espaces portes, clarification cytoplasmique.

Au microscope électronique :

au fur et à mesur du temps et de l'intoxication, on distingue :

- des altérations mitochondriales :
  - tuméfactions troubles
  - raréfactions des crêtes
  - aspects monstrueux.
- une prolifération du réticulum endoplasmique lisse
- des espaces séparant les membranes cellulaires
- l'absence des cellules endothéliales ou double couche au pôle sanguin des hépatocytes,
- des anomalies aux pôles biliaires des hépatocytes.

Donc, nous pouvons remarquer, lors de l'intoxication éthylique, l'apparition :

- de stéatose,
- de lésions ultrastructurales,
- de fibrose.

.../...

La connaissance de lésions ultrastructurales permettrait de refuter l'intervention d'un facteur nutritionnel.

Une question reste encore sans réponse : Pourquoi seulement 10 % des éthyliques seulement constituent une cirrhose du foie.

c) évolution de l'hépatite alcoolique :
très schématiquement, nous citerons les différents stades par lesquels passe souvent l'état hépatique de l'alcoolique :

+ l'hépatite parenchymateuse,
est souvent le premier stade de l'évolution vers la cirrhose lors d'une intoxication éthylique chronique.

- il s'agit d'un homme jeune à l'intoxication déjà ancienne présentant une hépatite alcoolique aiguë :
  - gros foie, jaune chamois, stéatosique à la laparoscopie.

à la P.B.F
- stéatose
- lésion dégénérative des hépatocytes (nécrose)
- infiltrat inflammatoire avec constitution d'un granulome inflammatoire évoluant vers la sclérose.

ALBOT distingue deux formes cliniques :
- hépatite subaiguë à cellules clarifiées
- hépatite subaiguë stéatosique.

+ si l'évolution se poursuit :
- l'intoxication ayant cessé, la guérison est de règle.
- si non l'on s'achemine vers l'hépatite cirrhogène :
  - gros foie pâle, vallonné
  - disparition de la nécrose et de l'infiltrat inflammatoire
  - apparition de la fibrose.
- si l'intoxication cesse la stabilisation est de règle.

.../...

+ Si non l'étape suivante est la cirrhose vraie : apparition de nodules de régénération et de bandes de sclérose.

Le processus ayant tendance à évoluer pour son propre compte ; l'arrêt de l'alcoolisation n'entraînerait plus systématiquement une évolution favorable.

d) Différents aspects des cirrhoses alcooliques :

- en France 94 % des cirrhoses ont une origine éthylique.

Les autres étiologies sont très faibles :

d'après GODLEWSKI
- cirrhoses pigmentaires 2,4 %
- cirrhoses biliaires 1,3 %
- cirrhoses post-hépatiques 1,2 %
- cirrhoses cardiaques 0,4 %

- Nous n'y ferons pas allusion dans ces pages, notre but étant l'application de la méthode ci-dessus décrite, de dosage des IgA au dépistage des cirrhoses au tout début dans les collectivités exposées à l'alcoolisme.

- Les cirrhoses alcooliques peuvent affecter différentes morphologies :
  - hypertrophiques
  - atrophiques
  - hypertropho-atrophiques.

sans qu'il y ait, semble-t-il, de corrélations pronostiques nettes (JUSTIN BESANÇON - GIRARD).

D) Traduction protéïque de l'état cirrhotique :

a) Différentes méthodes ont permis l'étude des protéïnes sériques au cours des cirrhoses :

- anciennement les tests hépatiques :
  - Mac Lagan (IgM)
  - Mangre (Ig Globales)
  - Gros (albumine/globulines)
- puis l'électrophorèse sur papier
- puis l'électrophorèse en gel de polyacrylamide
- enfin, l'immunodiffusion radiale quantitative.

.../...

Ces méthodes ont permis d'isoler les fractions protéïques suivantes :

b) Les immunoglobulines ou Ig

+ on en distingue 5 classes :

IgG IgA IgM IgD IgE

dont les concentrations sériques seraient les suivantes :

IgG	1170 ± 27 mg/100 ml
IgA	220 ± 8 mg/100 ml
IgM	12 ± 5 mg/100 ml
IgD	0,3 à 4 mg/100 ml
IgE	0,001 à 0,014mg/100 ml

+ Variations au cours des différentes cirrhoses et hépatopathies :

- dans l'hépatite alcoolique aiguë = augmentation modérée des IgA.
- lors de la cirrhose alcoolique on constate une augmentation très importante des IgA assez caractéristique.
- dans les hépatites virales l'augmentation des IgA est très faible, bien inférieure à celle des IgG.
- dans les hépatites chroniques, les cirrhoses non alcooliques, l'élévation des IgA est faible ainsi que dans le cancer du foie.

Dans le dernier cas, le fait que cancer et cirrhose s'associent fréquemment, fausse le diagnostic mais il semble que l'augmentation des IgA soit le fait de la cirrhose.

+ Lieu de synthese des Ig :

Au cours de tous processus cirrhogènes à la suite d'une activation non spécifique du mesenchyme, on constate une infiltration lymphoplasmocytaire (à l'origine de l'augmentation des Ig) mesenchymateuse.

.../...

Ce fait a été prouvé par FUZZI en 1969 qui a mis en évidence la formation de gamma globulines par des cellules au sein du parenchyme hépatique, au cours de diverses hépatopathies (immunoglobulin in chronic liver disease).

+ Existe-t-il un mécanisme immunitaire de l'entretien des cirrhoses ?

La plupart des Ig lors des cirrhoses auraient une structure anormale, soit de par leur malfaçon, soit de par une aggression enzymatique anormale.
POPPER entrevoit un mécanisme auto-immunitaire : la lésion initiale de l'hépatocyte due à l'alcool (ou autre agent exogène) entraînerait l'activation du système mesenchymateux et l'auto-entretien du processus.
Pour lui, les complexes Ag-Ac fixant le complément viennent se poser préférentiellement sur les zones hépatiques lésées.
Cette hypothèse d'auto-immunité, doit être rapprochée des perturbations importantes de l'immunité lors des cirrhoses :

- humorale = apparition d'hétéro anticorps et d'auto-anticorps (ex. anticorps anti-mitochondries des cirrhoses biliaires primitives).
- diminution des réactions de l'hypersensibilité retardée (ex. I.D.R. candidine négative lors des cirrhoses éthyliques).

C) Albumine et globulines non immunitaires :

+ l'albumine :

dont le taux est diminué lors de l'hépatite alcoolique aiguë, l'hépatite virale, l'hépatite chronique.
Elle est effondrée dans les cirrhoses.

+ Les alpha 1 globulines :

dont l'alpha 1 antitrypsine qui est une glycoprotéine élaborée par le foie. Elle voit son taux sérique augmenté dans les syndromes cholestatiques et dans les affections pancréatiques.

.../...

+ <u>les alpha 2 globulines</u> :
  - la cerulaeoplasmine :
    - synthétisée par le foie
    - protéïne transporteuse de cuivre
    - présente peu de variations dans les cirrhoses du foie.
  - haptoglobine :
    - synthétisée dans le foie
    - témoin des syndromes inflammatoires
    - diminuée dans les cirrhoses.

+ <u>Les Béta 1 globulines</u> :
  - Les Béta 1 C et Béta 1 A globulines entrent dans la composition de la fraction C3 du complément sérique, qui ne varie pas au cours des cirrhoses alcooliques.
  - La transferrine :
    - synthétisée au niveau du foie
    - protéïne de transport du fer, normalement incomplètement saturée à 33 %.
      La transferrine chute dans la majorité des affections hépatiques et ceci précocément.
      Elle apparaît donc comme un bon reflet de la moindre souffrance hépatocytaire.
      Lors des cirrhoses la chute en est progressive.

Ainsi, l'élévation des IgA traduirait l'infiltration lymphoplasmocytaire quasi spécifique lors de l'alcoolisme et la chute de la transferrine l'insuffisance hépatocellulaire rencontrée lors de multiples hépatopathies.

Il est admis de plus que l'infiltration lymphoplasmocytaire dévierait de l'énergie, aux dépends des hépatocytes. Ce phénomène aurait comme conséquence l'aggravation de l'insuffisance hépatocellulaire.
La variation des protéïnes sériques, étant à peu près parallèle à l'importance de la réaction mesenchymateuse, et celle-ci conditionnant en grande partie la constitution de la cirrhose, l'étude des IgA et de la transferrine permettrait de plus d'évaluer le stade évolutif de la maladie.

C O N C L U S I O N S

I - La technique : l'électro-immunodiffusion sur cellogel :

C'est la technique de LAURELL adaptée sur cellogel pour la première fois par Monsieur BARRES, et avec lui nous apportons sa première application au titrage des immunoglobulines A et de la transferrine.

Ses avantages sont nombreux par comparaison avec l'immuno-diffusion radiale jusque là employée :

- sensibilité et précision
- coût très bas des réactifs pouvant être ultérieurement abaissé par l'industrialisation du procédé.
- rapidité d'obtention des résultats.

Son inconvénient, probablement provisoire, est la préparation manuelle du cellogel.

II - Le principe

L'hépatite alcoolique et la cirrhose alcoolique du foie augmentent dans le serum de façon quasi spécifique, la concentration des IgA. L'insuffisance hépato-cellulaire non spécifique est traduite par la chute de la transferrine plasmatique.

Le rapport IgA/Tf, augmente spécifiquement et régulièrement de l'hépatite alcoolique à la cirrhose (ARON et Coll.).

III - Résultats et applications pratiques :

A) Résultats du dosage des IgA et de la transferrine plasmatiques chez des témoins, des alcooliques et des cirrhotiques (moyennes et écart-type).

	IgA mg/l	Tf mg/l	R IgA/Tf
TEMOINS N = 45	242 ± 85	279 ± 50	0,87 ± 0,29
ALCOOLIQUES N = 30	339 ± 141	224 ± 53	1,61 ± 0,95
CIRRHOTIQUES N = 33	585 ± 292	204 ± 80	3,36 ± 2,34

.../..

Nous rappelons ici la signification restreinte devant être donnée aux écarts-types, les populations n'ayant pas une distribution normale.

B) Applications pratiques :

Nous définissons 4 grandes zones de R = IgA/Tf :

- R 1,20 = normaux
- 1,2 R 1,60 = alcooliques vraissemblablement non cirrhotiques.
- 1,60 R 3,35 = zone d'incertitude (alcooliques cirrhotiques ou non).
- R 3,35 = zone de très forte présomption de cirrhose alcoolique.

Pratiquement, lorsqu'un malade a les résultats suivants :

- IgA 340 mg/l
- Tf 225 mg/l
- R 1,60

les examens complémentaires en vue de la recherche d'une cirrhose du foie doivent être pratiqués :

- taux de prothrombine - albuminémie
- transit oesogastroduodenal avec recherche de varices oesophagiennes
- laparoscopie + ponction biopsie du foie.

IV - <u>Perspectives d'avenir technique et clinique</u> :

La technique originale que nous proposons ici convient au dépistage précoce des cirrhoses alcooliques du foie dans les collectivités exposées.

L'industrialisation de la fabrication des cellogel, la multiplication des dosages simultanés, peuvent accentuer son aspect économique. A titre complémentaire, nous préconisons de doser en outre la gamma-glutamyl transpeptidase.

Nous rappelerons à l'instar de Monsieur ARON et de ses collaborateurs que la détermination du rapport R = IgA/Tf (pour ses valeurs moyennes 1,60 R 3,35) ne peut être qu'une méthode de triage et sert surtout d'argument de poids dans l'indication d'investigations complémentaires en vue de la recherche d'une cirrhose alcoolique du foie.

.../...

Cet examen a donc un double interêt :

1) dans le dépistage et le diagnostic de la cirrhose.

2) interêt pronostic, car il suggère une certaine reversibilité du processus cirrhotique à l'arrêt de l'intoxication alcoolique, et cela d'autant plus que le diagnostic a été précoce.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

+ ARON - LAMY - WEILL =
dépistage de la cirrhose alcoolique du foie par le dosage immunologique des IgA et de la transferrine.
Press. Med. (8) 13 février 1971 (357-358).

+ Application de la technique d'immuno-électrophorèse bidimensionnelle au problème de cirrhose.
Path. biol. 1970,18 (11) 653-661.
REBEYROTTE - BAUJAT - LABBE - KOUTSOUKOJ.

+ LAMY - ARON - MARTIN - WEILL
reversibilité de signes biologiques de la cirrhose chez l'alcoolique chronique à la suite d'un sevrage.
Clin. Chim. Acta. 1973 - 49 - 189-193.

+ ARON - LAMY - WEILL
diagnostic précoce de la cirrhose alcoolique du foie.
Ann. gastro-entero. 1973 - 9 (1), 1-17.

+ LAMY - WEILL - ARON
IgA, transferrine et haptoglobine seriques.
REV. FRANC. GASTRO-ENTERO. 1973 - 94 (Déc.) 17-40.

+ Détermination du rapport IgA sur transferrine dans le diagnostic des cirrhoses :
écrire à

Centre de Documentation BEHRING
10, rue Clément Marot
PARIS 8e Tél. 225-25-10.